

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

19

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

11

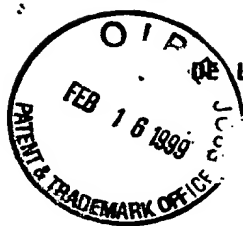
N° de publication
(A n'utiliser que pour
le classement et les
commandes de reproduction.)

2.069.291

21

N° d'enregistrement national
(A utiliser pour les paiements d'annuités,
les demandes de copies officielles et toutes
autres correspondances avec l'I.N.P.I.)

70.40513



INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

15

BREVET D'INVENTION

PREMIÈRE ET UNIQUE

PUBLICATION

22

Date de dépôt..... 10 novembre 1970, à 17 h.

Date de la décision de délivrance..... 9 août 1971.

Publication de la délivrance..... B.O.P.I. — «Listes» n. 35 du 3-9-1971.

51

Classification internationale (Int. Cl.)... C 12 d 13/00/C 07 c 55/00.

71

Déposant : Société dite : AJINOMOTO CO. INC., résidant au Japon.

73

Titulaire : *Idem* (71)

74

Mandataire : Cabinet Beau de Loménie, 55, rue d'Amsterdam, Paris (8).

54

Procédé de production microbiologique d'acides dicarboxyliques à partir d'hydrocarbures.

72

Invention de :

33

32

31

Priorité conventionnelle : Demande de brevet déposée au Japon le 10 novembre 1969,
n. 89.959/1969 au nom de la demanderesse.

La présente invention concerne un procédé pour la production d'acides dicarboxyliques en C_5 à C_{18} à partir d'hydrocarbures saturés ou insaturés ou leurs dérivés d'oxydation en chaîne droite en C_9 - C_{18} par l'action de levures.

5 Les acides dicarboxyliques à longue chaîne sont utiles comme plastifiants, matières premières pour la préparation de résines de polyamides, de résines alkydes, de résines de polyesters, huiles lubrifiantes, peintures, parfums et analogues. Cependant, on n'a jamais réussi à produire à l'échelle industrielle des acides dicarboxyliques en C_{12} à C_{18} .

10 La demanderesse a découvert, selon l'invention, que lorsque l'on cultive des levures du genre *Candida* ou *Pichia* capables de produire des acides dicarboxyliques à partir d'hydrocarbures, dans un milieu contenant un hydrocarbure, un aldéhyde, un alcool ou un acide monocarboxylique saturé ou insaturé en C_9 - C_{18} en conditions aérobies, on peut produire des acides
15 dicarboxyliques en C_5 - C_{18} avec un rendement très élevé.

Les microorganismes que l'on peut utiliser selon l'invention sont des levures appartenant au genre *Candida* ou *Pichia* et capables de produire des acides dicarboxyliques en C_5 - C_{18} à partir d'hydrocarbures en C_9 - C_{18} ; on peut citer, par exemple, *Candida cloacae* AJ-5341 (FERM P-410), *Candida*
20 *cloacae* AJ-5463 (FERM P-736), *Candida tropicalis* AJ-5430 (FERM P-734), *Candida maltosa* AJ-4718 (FERM P-733), *Candida lipolytica* AJ-4546 (FERM P-731), *Candida parapsilosis* AJ-4578 (FERM P-408), *Candida intermedia* AJ-4625 (FERM P-732), *Candida intermedia* AJ-4626, *Candida guilliermondii* AJ-4532 (FERM P-730), *Pichia haplophila* AJ-5078 (FERM P-409) et *Pichia etchellsii* AJ-5342 (FERM P-735).
25 Les numéros d'ordre FERM P et des microorganismes correspondent à leur classification dans le Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology, Ministry of the Industrial Trade and Industry.

Candida cloacae AJ-5341 et *Candida cloacae* AJ-5463 sont des souches nouvellement isolées par la demanderesse et possèdent les propriétés suivantes :

30 1. Observation au microscope (croissance à 25°C pendant trois jours dans un bouillon extrait de levure - extrait de malt - glucose)

Les cellules sont des ovales courts de 2,5 à 6,5 μ x 2,0 à 6,5 μ , et sont isolées ou en paires.

Spores : pas de formation (dans le milieu de Kleyn, le milieu de
35 Wiekerham, et le milieu de gélose extrait de levure - extrait de malt - glucose).

Mycélium : formation de pseudomycélium primitif (par la méthode à la plaque de Dalmau dans le milieu pomme de terre - dextrose - gélose.

2. Colonies sur gélose (croissance à 25°C pendant vingt jours dans le bouillon extrait de levure - extrait de malt - glucose).

La culture par piqûre est blanc jaunâtre, pâle à blanc grisâtre, lisse, brillant, sombre, de consistance molle ou butyreuse, et possède une

3. Formation d'anneaux : positive (dans le bouillon extrait de levure - extrait de malt - glucose).

4. Fermentation des hydrates de carbone.

Fermentation du glucose : positive (faible et retardée)

Fermentation du galactose, du saccharose, du maltose, du lactose, du raffinose, du mélézitose et du tréhalose : pas de fermentation.

5. Assimilation du KNO_3 : pas d'assimilation.

6. Décomposition de l'arbutine : négative

7. Vitamines nécessaires : biotine

8. Liquéfaction de la gélatine : pas de liquéfaction

9. Production de composés du type amidon : néant

10. Assimilation de composés carbonés :

D-glucose, D-galactose, saccharose, glycérol, maltose, adonitol, D-mannitol, cellobiose, D-sorbitol, tréhalose, α -méthyl-D-glucoside, mélibiose, raffinose, gluconate de potassium, mélézitose, acide DL-lactique, acide succinique, D-xylose, acide citrique et D-ribose sont assimilés.

Ethanol, érythritol, lactose, dulcitol, L-sorbose, salicine, 2-céto-gluconate de calcium, inuline, amidon, L-arabinose, inositol, D-arabinose et L-rhamnose ne sont pas assimilés.

Lorsque l'on compare ces caractéristiques avec celles de *Candida Choacae* indiquées dans le *Journal of General Applied Microbiology*, 10 (1964), par Komagata, Nakase et Katsuya, les souches AJ-5341 et AJ-5463 sont identifiées avec *Candida cloacae*, bien que AJ-5341 et AJ-5463 ne soient pas capables d'assimiler le L-sorbose, l'amidon, la salicine et l'acide 2-cétogluconique.

Selon un mode de mise en oeuvre de l'invention, on peut produire un acide dicarboxylique lorsque l'on cultive le microorganisme sur un milieu contenant une source de carbone comprenant un hydrocarbure saturé ou insaturé ou un de ses dérivés d'oxydation à chaîne droite en C_9 à C_{18} .

Selon un autre mode de mise en oeuvre de l'invention, on cultive au préalable le microorganisme sur un milieu contenant une source de carbone assimilable autre que l'hydrocarbure ci-dessus ou de ses dérivés d'oxydation jusqu'à obtenir le degré de croissance le plus élevé du microorganisme; on

On observe la production des acides dicarboxyliques indiquée dans le tableau V ci-dessous.

TABLEAU V

5	Souche utilisée	Quantité de CaCO_3 ajouté	Quantité d'acide dicarboxylique produit (mg/l)		
			Acide adipique	Acide subérique	1,10-décane-dicarboxylique
10	Candida cloacae	12	1000	1000	1324,7
	AJ-5341	14	1040	413	1423,3
	Candida parapsi-	10			1946,7
	losis AJ-4578	12			1686,6

EXEMPLE 6

On prépare des cellules microbiennes de Candida cloacae AJ-5463 par culture pendant 24 h sur un milieu de même composition que celui de l'exemple 1 et contenant, en outre, 5 g de sorbitol par dl, on ajoute les cellules (250 mg de matière sèche) à 13,5 ml de tampon au phosphate 0,5 M (pH 7,5) contenant l'hydrocarbure indiqué dans le tableau VI ci-après et on incube le système réactionnel à 30°C pendant 72 h. On observe la production d'acides dicarboxyliques dans le milieu réactionnel comme indiqué dans le tableau VI ci-dessous.

TABLEAU VI

Quantité d'hydrocarbure utilisée		Quantité d'acide dicarboxylique produit (g/l)	
25	n-dodécane 10 ml/dl	Acide 1,10-décanedicarboxylique	8,2
		Acide subérique	0,60
	n-tridécanne 10 ml/dl	Acide 1,11-undécanedicarboxylique	9,83
	n-tétradécane 10 ml/dl	Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	12,4
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	0,08
	n-pentadécane 10 ml/dl	Acide 1,13-tridécanedicarboxylique	16,9
30		Acide 1,11-undécanedicarboxylique	0,06
	n-hexadécane 10 ml/dl	Acide 1,14-tétradécanedicarboxylique	18,46
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	0,12
	n-heptadécane 10 ml/dl	Acide 1,15-pentadécanedicarboxylique	8,24
		Acide 1,13-tridécanedicarboxylique	0,13
	n-octadécane 10 ml/dl	Acide 1,16-hexadécanedicarboxylique	6,46
35		Acide 1,14-tétradécanedicarboxylique	0,12
	tétradécane-1, 10 ml/dl	Acide 1,10-décanedicarboxylique	2,65
		Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	1,11
	hexadécane-1 10 ml/dl	Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	4,60
		Acide 1,14-tétradécanedicarboxylique	1,29

Quantité d'hydrocarbure utilisée		Quantité d'acide dicarboxylique produit (g/l)	
5	alcool laurylique 10 ml/dl	Acide 1,10-décanedicarboxylique	1,12
		Acide sébacique	0,02
	alcool myristylique 1 g/dl	Acide 1,12-docécanedicarboxylique	2,30
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	0,19
	alcool palmitique 1 g/dl	Acide 1,14-tétradécanedicarboxylique	0,30
10		Acide subérique	0,08
	aldéhyde myristique 1 g/dl	Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	0,13
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	0,04
	acide myristique 1 g/dl	Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	0,15
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	0,02
15	acide palmitique 1 g/dl	Acide 1,14-tétradécanedicarboxylique	0,08
		Acide 1,12-dodécanedicarboxylique	0,01
	acide stéarique 1 g/dl	Acide subérique	0,05
		Acide adipique	0,02
	n-nonane	Acide azélaïque	1,98
20		Acide pimélique	0,09
	n-décane	Acide sébacique	3,24
		Acide subérique	0,09
	n-undécane	Acide 1,9-nonanedicarboxylique	4,85
		Acide azélaïque	0,16

20 EXEMPLE 7

On répète l'incubation selon l'exemple 2 en utilisant *Candida cloacae* AJ-5341 (FERM P-410) de la même manière qu'à l'exemple 2 mais on remplace 2 ml de n-dodécane par 2 ml de chacun des n-alkanes indiqués dans le tableau VII ci-dessous et on observe la production des acides dicarboxyliques indiquée dans le tableau VII.

TABLEAU VII

Hydrocarbure utilisé		Quantité d'acide dicarboxylique produit (mg/l)	
30	n-nonane	Acide glutarique	96,3
		Acide adipique	187,3
		Acide azélaïque	546
	n-décane	Acide adipique	118,7
		Acide subérique	23,7
		Acide sébacique	426,5
35	n-undécane	Acide pimélique	78
		Acide azélaïque	22
		Acide 1,9-nonanedicarboxylique	232
	n-dodécane	Acide adipique	98
		Acide subérique	112,6
		Acide 1,10-décanedicarboxylique	610
	n-tridécane	Acide pimélique	65,4
		Acide azélaïque	21,1
		Acide 1,11-undécanedicarboxylique	192,3

Hydrocarbure utilisé	Quantité d'acide dicarboxylique produit (mg/l)
n-tétradécane	Acide adipique 28
	Acide subérique 31
	Acide 1,12-dodécanedicarboxylique 79,4
n-pentadécane	Acide glutarique 12
5	Acide pimélique 186
	Acide azélaïque 28
n-hexadécane	Acide adipique 207
	Acide subérique 70,5
n-heptadécane	Acide pimélique 176
	Acide azélaïque 23
10. n-octadécane	Acide adipique 39
	Acide subérique 118,3
	Acide sébacique 5

TABLEAU

1	Acide adipique
2	Acide pimélique
3	Acide azélaïque
4	Acide glutarique
5	Acide pimélique
6	Acide azélaïque
7	Acide glutarique
8	Acide pimélique
9	Acide azélaïque
10	Acide glutarique
11	Acide pimélique
12	Acide azélaïque
13	Acide glutarique
14	Acide pimélique
15	Acide azélaïque
16	Acide glutarique
17	Acide pimélique
18	Acide azélaïque
19	Acide glutarique
20	Acide pimélique
21	Acide azélaïque
22	Acide glutarique
23	Acide pimélique
24	Acide azélaïque
25	Acide glutarique
26	Acide pimélique
27	Acide azélaïque
28	Acide glutarique
29	Acide pimélique
30	Acide azélaïque
31	Acide glutarique
32	Acide pimélique
33	Acide azélaïque
34	Acide glutarique
35	Acide pimélique
36	Acide azélaïque
37	Acide glutarique
38	Acide pimélique
39	Acide azélaïque
40	Acide glutarique
41	Acide pimélique
42	Acide azélaïque
43	Acide glutarique
44	Acide pimélique
45	Acide azélaïque
46	Acide glutarique
47	Acide pimélique
48	Acide azélaïque
49	Acide glutarique
50	Acide pimélique
51	Acide azélaïque
52	Acide glutarique
53	Acide pimélique
54	Acide azélaïque
55	Acide glutarique
56	Acide pimélique
57	Acide azélaïque
58	Acide glutarique
59	Acide pimélique
60	Acide azélaïque
61	Acide glutarique
62	Acide pimélique
63	Acide azélaïque
64	Acide glutarique
65	Acide pimélique
66	Acide azélaïque
67	Acide glutarique
68	Acide pimélique
69	Acide azélaïque
70	Acide glutarique
71	Acide pimélique
72	Acide azélaïque
73	Acide glutarique
74	Acide pimélique
75	Acide azélaïque
76	Acide glutarique
77	Acide pimélique
78	Acide azélaïque
79	Acide glutarique
80	Acide pimélique
81	Acide azélaïque
82	Acide glutarique
83	Acide pimélique
84	Acide azélaïque
85	Acide glutarique
86	Acide pimélique
87	Acide azélaïque
88	Acide glutarique
89	Acide pimélique
90	Acide azélaïque
91	Acide glutarique
92	Acide pimélique
93	Acide azélaïque
94	Acide glutarique
95	Acide pimélique
96	Acide azélaïque
97	Acide glutarique
98	Acide pimélique
99	Acide azélaïque
100	Acide glutarique

REVENDICATIONS

1. Procédé pour la production d'acides dicarboxyliques en C_{12} à C_{18} à partir d'hydrocarbures saturés ou insaturés et de leurs dérivés d'oxydation à chaîne droite en C_{12} à C_{18} par l'action de levures, caractérisé en ce que l'on cultive une levure du genre *Candida* ou *Pichia* capable de produire les acides dicarboxyliques à partir d'hydrocarbures, sur un milieu de culture contenant un hydrocarbure saturé ou insaturé ou ses dérivés d'oxydation en C_{12} à C_{18} , en conditions aérobies, et on récupère l'acide dicarboxylique produit.
2. Procédé pour la production d'acides dicarboxyliques en C_{12} à C_{18} à partir d'hydrocarbures saturés ou insaturés et de leurs dérivés d'oxydation à chaîne droite en C_{12} à C_{18} par l'action d'une source d'enzyme de levure, caractérisé en ce que l'on incube une source d'enzyme de levure appartenant au genre *Candida* ou *Pichia* capable de produire des acides dicarboxyliques à partir d'hydrocarbures avec une solution contenant un hydrocarbure saturé ou insaturé ou ses dérivés d'oxydation en C_{12} à C_{18} en conditions aérobies jusqu'à la production de l'acide dicarboxylique en C_{12} à C_{18} et on récupère l'acide dicarboxylique ainsi produit.
3. Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que ladite levure est choisie parmi *Candida cloacae*, *Candida maltosa*, *Candida lipolytica*, *Candida parapsilosis*, *Candida intermedia*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Pichia etchellsii* et *Pichia haplophila*.
4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ladite levure est choisie parmi *Candida cloacae* FERM P-410, *Candida cloacae* AJ-5463 (FERM P-736), *Candida maltosa* AJ-4718 (FERM P-733), *Candida lipolytica* AJ-4546 (FERM P-731), *Candida intermedia* AJ-4625 (FERM P-732), *Candida tropicalis* AJ-5340 (FERM P-734), *Candida guilliermondii* AJ-4532 (FERM P-730) et *Pichia haplophila* AJ-5078 (FERM P-409).
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit acide dicarboxylique est choisi parmi les acides 1,10-décane-dicarboxylique, 1,11-undécane-dicarboxylique, 1,12-dodécane-dicarboxylique, 1,13-tridécanedicarboxylique, 1,14-tétradécane-dicarboxylique, 1,15-pentadécane-dicarboxylique et 1,16-hexadécane-dicarboxylique.
6. Procédé pour la production d'acide dicarboxylique en C_5 à C_{18} à partir d'hydrocarbure saturé ou de ses dérivés d'oxydation à chaîne droite en C_9 à C_{18} par l'action d'une levure, caractérisé en ce que l'on cultive une souche de *Candida cloacae* capable de produire des acides dicarboxyliques

à partir d'hydrocarbures soit un milieu contenant un hydrocarbure saturé ou ses dérivés d'oxydation en C₉ à C₁₈ en conditions aérobies et on recueille l'acide dicarboxylique ainsi produit.

7. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que ladite
5 souche de levure est choisie parmi *Candida cloacae* FERM P-410 et FERM P-736.